



ACÇÃO FARMACOLÓGICA DAS FOLHAS DE *DRYMIS WINTERI* (WINTERACEAE), NA HEMATOPOESE DE CAMUNDONGOS PORTADORES DO TUMOR ASCÍTICO DE ERLICH (TAE)¹

Greice Martins²
Marcos Vinicio Giraldi³
Juliane Seleme Brehmer⁴
Ana Angélica Steil⁵

RESUMO: O câncer ou neoplasia é uma doença de natureza crônica que mata pela invasão destrutiva de órgãos normais por extensão direta e/ou disseminação para pontos distantes (metástases) (KUMAR; COTRAN, 2000; BRASILEIRO FILHO, 2004). De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), o câncer atinge 9 milhões de pessoas, matando 5 milhões a cada ano, sendo a segunda causa de morte por doença. A OMS alerta para o fato de que, se não forem tomadas medidas de prevenção, a incidência de câncer aumentará em 100% nos próximos 20 anos (BRASIL, 2003). A *Drymis winteri* é uma planta nativa da América do Sul. Seu nome popular é casca de anta, caataia, canela amarga. Suas flores são brancas com centro amarelo. Suas folhas são utilizadas como condimento. Na medicina popular, as folhas são utilizadas para distúrbios estomacais, náuseas, anemias, colites, febre, câncer entre outros. Os compostos identificados da planta, o drimanial e o polygodial evidenciaram efeitos nociceptivos e propriedades anti-inflamatórias. Pelo exposto acima, contata-se a necessidade da busca de novas investigações científicas da evidência da ação farmacológica desta planta. (DA CUNHA *et al.*, 2001). Como resultados verificamos que a planta não apresentou toxicidade em nenhum teste proposto. Apresentou atividade significativa na ação antinociceptiva nos dois testes propostos. Aumentou a hematopoiese de animais tratados com tumor ascítico de Erlich, tratados com o extrato bruto da planta. Não modificou o desenvolvimento do tumor dos animais com TAE. Novos testes estão sendo feitos com as frações desta planta do desenvolvimento do Tumor Ascítico de Erlich.

Palavras-chave: *Drymis winteri*. (Winteraceae). Tumor ascítico de Erlich (Tae). Hematopoiese.

ABSTRACT: The cancer or tumor is a disease of chronic nature which kills the destructive invasion of normal organs by direct extension and / or spread to distant points (metastases) (KUMAR; COTRAN, 2000; BRASILEIRO FILHO, 2004). According to World Health Organization (WHO), the cancer reaches 9 million people, killing 5 million every year, and the second cause of death by disease. The WHO alert to the fact that if no measures are taken to prevent the incidence of cancer increased by 100% over the next 20 years (BRAZIL, 2003). The *Drymis winteri* is a native plant of South America. Its name is popular bark of tapir, caataia, cinnamon, bitter. The flowers are white with yellow center. Its leaves are used as condiment. In folk medicine, the leaves are used for stomach disorders, nausea, anemia, colitis, fever, cancer and others. The compounds identified from the plant, the drimanial and polygodial showed nociceptive effects and anti-inflammatory properties. For the above, contact the necessity of search of new scientific evidence of the pharmacological action of this plant. (DA CUNHA *et al.*, 2001). The results found that plant showed no toxicity in any proposed test. Significant activity showed in the antinociceptive action in both tests increased the proposed hematopoiesis of animals treated with the Erlich ascites tumor treated with the crude extract of the

plant. Did not modify the development of tumors in animals with TAE. New tests are being made with the fractions of the development of this plant in Erlich Ascites Tumor

Keywords: *Drymis winteri*. (Winteraceae). Erlich ascites tumor (Tae). Hematopoese.

INTRODUÇÃO

De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde, o número de novos casos de câncer aumentará de 10 milhões, em 2000, para 15 milhões, em 2020, e 60% ocorrerão nos países em desenvolvimento (SANTINI, 2007). Tal doença causa mais de sete milhões de óbitos a cada ano (OPAS, 2006).

No Brasil, o câncer é a segunda causa de morte por doença, perdendo apenas para as doenças cardiovasculares. Estima-se, segundo o Ministério da Saúde, para 2006, 472.050 novos casos da doença no país. Neste ano são esperados 234.570 casos novos para o sexo masculino e 237.480 para sexo feminino. (BRASIL, 2007).

O emprego das terapêuticas convencionais, além dos efeitos colaterais e do custo elevado, muitas vezes não permite a total erradicação das neoplasias. Assim, outras alternativas têm sido propostas, como a terapia biológica e a imunoterapia, que leva em consideração os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro e que constitui um resultado de uma melhor compreensão dos mecanismos básicos de defesa antitumoral (WALDMANN; MORRIS, 2006; REANG; GUPTA; KOHLI, 2006; PRENDERGAST; JAFFEE, 2007).

Síndromes paraneoplásicas são sinais e sintomas que ocorrem em órgãos distantes do tumor primário e de suas metástases. A maioria das síndromes associa-se a um tipo específico de tumor, no entanto, uma síndrome pode ser desencadeada por diferentes tipos de neoplasias. As síndromes paraneoplásicas resultam da interação entre o tumor, o mediador e o tecido-alvo (BARACAT F.F. et.al, 2003).

Um dos maiores problemas das síndromes paraneoplásicas são as anemias e as aplasias de medula, causadas pelos tumores e agravadas pela quimioterapia. Normalmente, um paciente tratado com quimioterapia precisa de transfusões sanguíneas por causa da anemia (BARACAT F.F. et.al, 2003).

Plantas medicinais têm se mostrado capazes de diminuir o crescimento do tumor e proteger a medula óssea das aplasias.

A *Drymis winteri* é uma planta nativa da América do Sul. Seu nome popular é casca de anta, caataia, canela amarga. Suas flores são brancas com centro amarelo. Suas folhas são utilizadas como condimento. Na medicina popular, as folhas são utilizadas para desordens estomacais, náuseas, anemias, colites, febre, câncer entre outros. Os compostos identificados da planta, o drimanial e o polygodial evidenciaram efeitos nociceptivos e propriedades antiinflamatórias. Pelo exposto acima, contata-se a necessidade da busca de novas investigações científicas da evidência da ação farmacológica desta planta. (DA CUNHA et al., 2001).

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A capacidade de reconhecer moléculas estranhas (antígeno-específicas) confere ao sistema imunológico a possibilidade de exercer uma vigilância sobre a integridade do meio interno. A hipótese de imunovigilância lançada por Burnet e Thomas em 1957 e 1958 foi alvo da discussão nas últimas cinco décadas. Estes autores propuseram que o sistema imunológico era capaz de reconhecer antígenos tumorais e controlar o crescimento tumoral. Contudo vários trabalhos contestaram a imunovigilância. Hoje se sabe que havia problemas metodológicos nestes trabalhos e que, de fato, a imunovigilância existe, mas esta é apenas uma dimensão da complexa relação entre o sistema imunológico e o câncer. O sistema imunológico é um supressor tumoral extrínscico, só agiria caso os supressores intrínscicos (principalmente apoptose) não fossem eficientes. (SMYTH; DUNN; SCHREIBER, 2006)

Muitos dos conhecimentos a respeito da relação tumor – sistema imunológico derivam, principalmente, de observações em modelos experimentais utilizando neoplasias transplantáveis em animais, especialmente camundongos. Uma destas neoplasias, que vem sendo muito utilizada como modelo experimental, é o tumor de Ehrlich. Este tumor foi introduzido na oncologia experimental por Paul Ehrlich em 1906, sendo um dos primeiros tumores transplantáveis a ser descrito na literatura. O tumor de Ehrlich foi descrito como tumor mamário espontâneo, de camundongo fêmea, originário de um carcinoma. O crescimento deste tumor se faz de duas formas: a forma sólida, quando as células tumorais são inoculadas no tecido subcutâneo ou na veia dos animais e crescem em diferentes locais do organismo, e a forma ascítica. Em 1972, Loewenthal e Jahn observaram que quando as células obtidas do tumor de Ehrlich eram transplantadas para a cavidade peritoneal, eram capazes de crescer em suspensão, ou seja, formava ascite; surgindo, então, o tumor ascítico de Ehrlich, que é mantido por meio de passagens intraperitoneais (FECCHIO *et al.*, 1990).

O tumor de Ehrlich é muito utilizado também para o estudo da ação biológica de extratos de plantas e outras substâncias (QUEIROZ *et al.*, 2004).

METODOLOGIA

Material vegetal e obtenção do extrato: após seco e triturado foi preparado um extrato hidroalcolico de etanol/água (50/50) e um extrato alcoólico utilizando o metanol como líquido extrator, mediante maceração durante 14 dias em recipiente fechado a temperatura ambiente. O material foi filtrado e concentrado através da evaporação do líquido extrator à pressão reduzida (rotavapor). Posteriormente, os extratos foram submetidos a um processo de partição líquido-líquido, sob agitação, com solventes de polaridade crescente, como hexano, clorofórmio, acetato de etila e butanol, para a obtenção dos respectivas frações semi-purificadas.

Animais: Foram utilizados camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*) fêmeas, com peso entre 24 – 30 g do Biotério da UnC, campus, Canoinhas. Na realização deste trabalho foram considerados os preceitos éticos exigidos na experimentação animal e aprovação pelo CEP-UnC. Os animais foram tratados com 400mg/Kg de extrato bruto da *Drymis winteri*.

Determinação do número total de células da medula óssea: o fêmur de cada animal foi extraído e cortado nas suas extremidades distais e o seu canal interno será lavado com 3 mL de salina. O líquido obtido foi corado com cristal violeta (0,5% em 30% de ácido acético) e foi realizada a contagem das células na câmara de Neubauer com auxílio de microscópio óptico.

Determinação do número diferencial de células da medula óssea: o fêmur de cada animal foi extraído e cortado nas suas extremidades distais e o seu canal interno será lavado com 3 mL de salina. Do líquido obtido, foi feita centrifugação, em citocentrífuga no laboratório de Imunologia da Univali. Após secagem, as lâminas foram coradas com corante hematológico. Foram contadas 200 células de cada lâmina..

Análise estatística: Para a comparação de dois grupos de amostras com distribuição normal foi utilizado o teste t de Student bicaudal e para a comparação de grupos que apresentavam diferentes desvios padrões, será utilizado o teste t alternativo, o teste de Welch ou o teste de Mann-Whitney (U) (não paramétrico). O nível de significância adotado para a rejeição da hipótese de nulidade foi de erro de até 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os objetivos deste projeto visaram a determinação de alterações no desenvolvimento do Tumor Ascítico de Erlich mostram alterações no desenvolvimento deste tumor, quando tratados com o extrato bruto da *Drymis winteri*.

A determinação da constituição química e da toxicidade desta planta, foram feitas em projetos Mérito Universitário, por alunos desta instituição. Como a planta não apresentou toxicidade aguda ou crônica, utilizamos o extrato bruto, na concentração.

Os principais objetivos foram estudar os principais constituintes químicos das folhas da planta *Drymis winteri* (Winteraceae). Identificar as principais classes de constituintes químicos presentes nos extratos brutos hidroalcoólico e metanólico da planta *Drymis winteri*. Determinar as substâncias químicas presentes nas frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e butanol. Verificar a ação dos extratos no crescimento do tumor ascítico de Ehrlich. Determinar se a planta altera a hematopoese dos animais portadores do tumor. Verificar a possível toxicidade do extrato que apresentar melhor atividade biológica.

Como resultados verificamos que planta não apresentou toxicidade em nenhum teste proposto.

Aumentou a hematopoese de animais tratados com tumor ascítico de Erlich, tratados com o extrato bruto da planta. Não modificou o desenvolvimento do tumor dos animais com TAE. Este é um resultado extremamente significativo, quando comparado a tratamentos convencionais com quimioterápicos os quais causam aplasia de medula. Como os quimioterápicos matam células em divisão celular acabam por matar células da medula óssea também. Esta planta não só protegeu a medula óssea como mostrou um aumento no número destas células nos animais tratados com esta planta.

Neste caso, podemos sugerir o uso deste extrato em conjunto com os tratamentos convencionais para proteger a medula óssea. Esta proteção é de suma importância pois protege também o sistema imunológico do animal, para este ajudar na erradicação da doença.

Novos testes estão sendo feitos com as frações desta planta do desenvolvimento do Tumor Ascítico de Erlich

REFERÊNCIAS

- BARACAT F.F. et.al. **Cancerologia atual: um enfoque multidisciplinar**. Ed. ROCA. São Paulo, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde: INCA. **Estimativa da Incidência e Mortalidade por Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2007. Disponível em: http://www.inca.gov.br/estimativas/2005/index.asp?link=conteudo_view.asp&ID=2. Acesso em 09 out. 2007.
- BRASILEIRO FILHO, G. **Patologia geral**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- BUBENÍK, J.; VONKA, V. **MHC class I status of tumours and design of immunotherapeutic strategies**. Immunol. Lett., v. 90, p. 177-178, 2003.
- CECHINEL-FILHO, V; YUNES, R.A. **Estratégias para obtenção de compostos ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para a otimização da atividade**. Quím. Nova, v.21, p.99-105, 1998.
- CIRILO, V. K., **Manual de plantas medicinais**. Assessor, Pr, BR, 1993.
- DA CUNHA, F.M.; FRODE, T.S.; MENDES, G.L.; MALHEIROS, A.; CECHINEL, F.V.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. **Additional evidence for the anti-inflammatory and anti-allergic properties of the sesquiterpene polygodial**. Life Sci. Nov. p.159-169. 2001
- DA SILVA, K. L.; CECHINEL, V.F. **Plantas do gênero Bauhinia: Composição química e potencial farmacológico**. Quim. Nova, v.25, p. 449-454, 2002.
- FECCHIO, D.; SIROIS, P.; RUSSO, M.; JANCAR, S. **Studies on inflammatory response induced by Ehrlich Tumor in mice peritoneal cavity**. Inflammation, v. 14, p. 125-132, 1990.
- GUPTA, M.; MAZUMBER, U.K.; KUMAR, R.S.; KUMAR, T.S. **Antitumor activity and antioxidant role of Bauhinia racemosa against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice**. Acta Pharmacol. Sin, v.25, p. 1070-1076, 2004.
- JANEWAY, C. A. et al. **Imunologia: o sistema immune na saúde e na doença**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 767. 2002.
- KO, E. C.; WANG, X.; FERRONE, S. **Immunotherapy of malignant diseases. Challenges and strategies**. Int. Arch. Allergy Immunol. V. 132, p. 294-309, 2003.
- KUMAR, V. & COTRAN, R. **Patologia estrutural e funcional**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
- NEWMANN, D. J.; CRAGG, G.M; SNADE, K.M. **Natural products as sources of new drugs over the period 1981- 2002**. J. Nat. Prod., v. 66, p. 1022-1037, 2003.
- OPAS. Organização Pan-Americana de Saúde. **Doenças crônico-degenerativas e obesidade: estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde**. Organização Pan-Americana de Saúde. Brasília, 2003. Disponível em: http://www.opas.org.br/sistema/arquivos/d_cronic.pdf. Acesso em: 21 dez. 2006.

PRENDERGAST, G.C.; JAFFEE, E.M. Cancer Immunologists and Cancer Biologists: Why We Didn't Talk Then but Need to Now. **Cancer Res**, v.67, p.3500-5, 2007.

QUEIROZ, L.S. et al. Ehrlich ascites tumor as a tool in the development of compounds with immunomodulatory properties. **Immunopharmacol. Immunotoxicol.**, v.26, p.511-525, 2004.

RAJKAPOOR, B.; JAYAKAR, B.; MURUGESH, N. Antitumour activity of Bauhinia variegata on Dalton's ascitic lymphoma. **J. Ethnopharmac.**, v.89, p.107-9, 2003.

REANG, P.; GUPTA, M.; KOHLI, K.. **Biological response modifiers in cancer**. MedGenMed., v.8, p.33- 40, 2006.

SANTINI, L.A. **A Luta Contra o Câncer: por novo paradigma. Brasil**. Ministério da Saúde/INCA. Rio de Janeiro, 2007. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=1848>. Acesso em: 10 março 2007.

SMYTH, M.J.; DUNN, G.P.; SCHREIBER, R.D. **Cancer immunosurveillance and immunoediting: the role of immunity I suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity**. Advances in Immunol., v. 90, p. 1-36, 2006.

WALDMANN, T.A.; MORRIS, J.C. **Development of antibodies and chimeriky molecules for cancer immunotherapy**. Advances in Immunol., v. 90, p. 84-121, 2006.

¹ Resultado de pesquisa de iniciação científica com financiamento do FAP

² Acadêmica do curso de Medicina Veterinária, UnC Campus Canoinhas

³ Acadêmico do curso de Medicina Veterinária, UnC Campus Canoinhas, e-mail: geraldimarcos@yahoo.com.br

⁴ Professora orientadora, UnC Campus Canoinhas, e-mail: aguaverdemanipula@uol.com.br

⁵ Professora da UnC, Campus Canoinhas, e-mail: aasteil@yahoo.com.br